



BIOGEMA

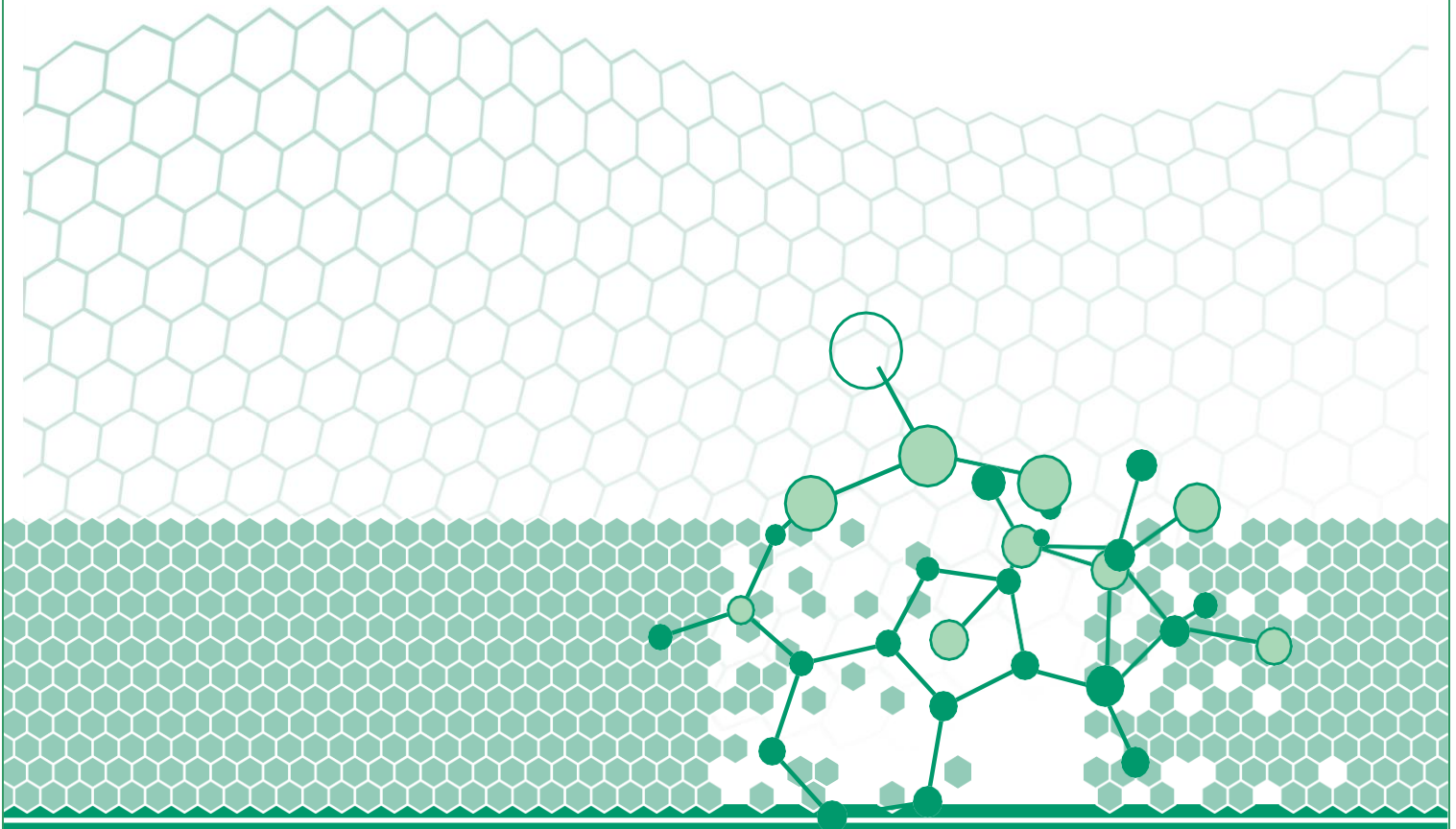
Garbiarska 2, 04001 KOŠICE

Návod na použitie

ELISA-anti-MILK-II-M semikvantitatívna

REF E-243 semikvantitatívna

96 jamiek



Súprava ELISA-anti-MILK-II-M semikvantitatívna je určená na semikvantitatívne stanovenie špecifických protilátok triedy IgM proti bielkovinám kravského mlieka v ľudskom sére. Umožňuje stanovenie 45 neznámych vzoriek v duplikátoch.

Kravské mlieko patrí do skupiny potencionálnych potravinových alergénov, t.j. látok proteínovej povahy, ktoré vyvolávajú u precitlivých jedincov chorobné stavy charakterizované abnormálnou imunitnou odpoveďou ľudského organizmu na tieto látky. Kravské mlieko obsahuje viac než 20 rôznych proteínov, z ktorých iba niektoré vyvolávajú imunitnú odpoveď s patofyziologickými dôsledkami (kazeín, β -laktoglobulín a α -laktalbumín). Zvýšené hladiny protilátok proti kravskému mlieku v ľudskom sére sú indikátorom alergických ochorení s kožnými symptómami (atopický ekzém, žihľavka), gastrointestinálnymi symptómami (detské koliky, hnačky, zvracanie) a respiračnými symptómami (nádcha, opakovaná súpavosť). Alergia na kravské mlieko sa najčastejšie vyskytuje u novorodencov a detí do troch rokov.

PRINCÍP

Stanovenie je založené na princípe nepriamej ELISA metódy na detekciu špecifických protilátok. Antigen je imobilizovaný na povrchu jamiek mikrotitračnej doštičky. Testované vzorky nariadeného ľudského séra sa inkubujú v jamkách mikrotitračnej doštičky. V tejto fáze dochádza k naviazaniu špecifických protilátok z ľudského séra na imobilizovaný antigen. Po inkubácii sa premytím odstráni nezreagované komponenty ľudského séra a pridá sa konjugát chrenovej peroxidázy s protilátkou proti ľudskému imunoglobulínu IgM. Po inkubácii a odstránení prebytočného konjugátu sa pridá chromogénny substrát a enzýmová reakcia sa zastaví pridaním kyseliny sírovej. Absorbancia testovaných vzoriek sa porovnáva s absorbanciou kontrolnej vzorky cut off. Intenzita sfarbenia je úmerná množstvu špecifických protilátok prítomných v sére.

ZLOŽENIE

Nezamieňať substancie z iných súprav!

1. Mikrotitračná doštička

12 ks 8-jamkových lámateľných stripov potiahnutých antigénom.

2. Kontrolné vzorky

3 fľaštičky - 1 fľaštička (1 ml) s kontrolnou vzorkou negatívnou, 1 fľaštička (1 ml) s kontrolnou vzorkou cut off (hraničnou) a 1 fľaštička (1 ml) s kontrolnou vzorkou pozitívnou, sú vyriedené v zriedovacom roztoku, pripravené na použitie. Absorbancie kontrolných vzoriek sú uvedené v Osvedčení o súprave.

3. Konjugát HRP-anti-IgM

1 fľaštička (12 ml) s konjugátom HRP-anti-IgM. Je pripravený na použitie.

4. Substrát TMB

1 fľaštička (8 ml) s TMB (3,3',5,5'-tetrametylbendidín). Je pripravený na použitie.

5. Zriedovacie roztok

1 fľaštička (2 x 50 ml) s TRIS-HCl tlmivým roztokom s obsahom bovinného sérového albumínu, 0,2% azidu sodného, 0,02% timerosalu a modrého farbiva, pH 7,0 ± 0,2. Je pripravený na použitie.

6. Vymývací roztok

1 fľaštička (50 ml). Obsah fľaštičky s vymývacím roztokom doplňte do 1000 ml destilovanej vody.

7. Kyselina sírová

1 fľaštička (8 ml) s roztokom 0,5 mol.l⁻¹ kyseliny sírovej. Je pripravený na použitie.

PRÍPRAVA VZORIEK

Súprava je určená na stanovenie vzoriek krvného séra. Čerstvé vzorky sa v priebehu stanovenia uskladňujú do 72 hodín pri 2-8 °C. Vzorky séra sa dlhodobo uskladňujú pri -20°C. Tieto po rozmrazení viackrát nezamrazujte. Na stanovenie nepoužívajte lipemické, hemolyzované alebo kontaminované krvné séra. Pacientske séra sa riedia 1:101, t.j. 10 μ l séra sa zriedi prídavkom 1 ml zriedovacieho roztoku.

DOPORUČENIE PRE PRÁCU SO SÚPRAVOU

- Všetky reagenty musia byť pred začiatkom stanovenia vytemperované na laboratórnu teplotu.
- Všetky inkubácie sa robia pri laboratórnej teplote 18 - 25°C.
- Odporúčame, aby sa kontrolné vzorky a pacientske séra spracovali v duplikátoch.
- Pracujte s presnými pipetami.
- Zabráňte mechanickému poškodeniu stripov.
- Nepoužitú stripy uchovávajte v obale spolu s vysušovadlom.
- Po ukončení premývania je dôležité dôkladne odstrániť vymývací roztok zo stripov.

PRACOVNÝ POSTUP

1. Pipetujte do jamiek stripov:

- po 100 μ l negatívnej kontrolnej vzorky do radu A
- po 100 μ l cut off vzorky do radu B
- po 100 μ l pozitívnej kontrolnej vzorky do radu C
- po 100 μ l pacientskych zriedených vzoriek do nasledujúcich radov.

2. Inkubujte 30 minút pri laboratórnej teplote.

- ### 3. Po ukončení inkubácie stripy 4x premyte vymývacím roztokom, pripraveným podľa návodu.

Poznámka: Pokiaľ nie je k dispozícii špeciálna premývačka pre mikrotitračné doštičky, premývanie spočíva v napipetovaní cca. 250 μ l vymývacieho roztoku do všetkých použitých jamiek. Po 30

sekundách sa vymývaci roztok zo stripov prudko vyleje. Postup sa opakuje ešte 3x.

4. Po ukončení premývania mikrotitračnú doštičku otočte hore dnom a okraje osušte filtračným papierom.
5. Do jamiek napipetujte po 100 µl konjugátu HRP-anti-IgM a inkubujte pri laboratórnej teplote 30 minút.
6. Stripy znova 4x premyte vymývacím roztokom a osušte podľa bodu 4.
7. Do jamiek napipetujte bez prerušenia po 50 µl substrátu TMB. Pipetovanie musí byť ukončené do 2 minút!
8. Vyfarbuje sa 15 min v tme.
9. Reakcia sa zastaví pridaním 50 µl kyseliny sírovej do každej jamky.
10. Intenzitu sfarbenia merajte na fotometrickom čítači mikrotitračných doštičiek pri vlnovej dĺžke 450 nm. Ako referenčný filter môže byť použitý filter s vlnovou dĺžkou od 600 – 690 nm. Meranie ukončíte najneskôr do 1 hod po skončení vyvíjania. Doštičku medzitým uschovajte v tme.

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

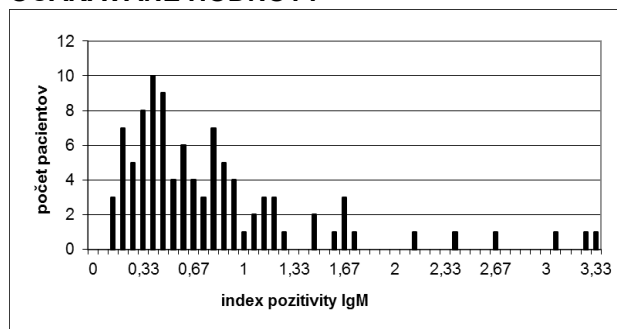
- Vypočítajte priemerné absorbancie pre všetky kontrolné vzorky a pacientske séra
- Vypočítajte index pozitivity podľa vzorca:

$$IP = \frac{\bar{A}_{\text{vzorky}}}{\bar{A}_{\text{cut off}}}$$

IP = index pozitivity

\bar{A} = priemerná absorbanca

OČAKÁVANÉ HODNOTY



Tieto hodnoty boli získané spracovaním 100 sér zdravých jedincov. Hodnoty by mali byť považované len za orientačné. Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastné rozpätie normálnych hodnôt na základe klinicky charakterizovaných vzoriek.

- Odporúčame hodnotenie pomocou vypočítaných indexov pozitivity:

Index pozitivity negatívnych hodnôt < 1

Index pozitivity hraničných hodnôt 1 – 1,3

Index pozitivity pre pozitívne hodnoty > 1,3

KONTROLA KVALITY STANOVENIA

- Absorbancia negatívnej kontrolnej vzorky by mala byť menej ako 0,5.
- Absorbancia cut off kontrolnej vzorky by mala minimálne 2x hodnotu absorbancie negatívnej kontrolnej vzorky.
- Absorbancia pozitívnej kontrolnej vzorky by mala do-sahovať minimálne 1,5x hodnotu absorbancie kontrolnej vzorky cut off.
- Hodnoty stanovené pri výstupnej kontrole súpravy sú uvedené v Osvedčení o súprave.

Opakovateľnosť

| INTRA-ASSAY | A | B | C |
|-----------------|-------|-------|-------|
| Počet stanovení | 16 | 16 | 16 |
| IP priemer | 0,387 | 2,051 | 3,766 |
| IP SD | 0,031 | 0,171 | 0,247 |
| C.V. % | 8,01 | 8,33 | 6,56 |

Reprodukovateľnosť

| INTER-ASSAY | A | B | C |
|-----------------|-------|-------|-------|
| Počet stanovení | 15 | 15 | 15 |
| IP priemer | 0,434 | 2,275 | 3,335 |
| IP SD | 0,058 | 0,143 | 0,254 |
| C.V. % | 13,36 | 6,29 | 7,62 |

Recovery

Metódou štandardného prídavku sa získajú hodnoty 80 - 120%.

UPOZORNENIE

- Súprava je určená pre profesionálne in vitro použitie v laboratóriu.
- V prípade výskytu nežiaducich príhod, tieto hláste na č. tel. +421 55 6228 131, biogema4@biogema.sk
- Jednotlivé substancie súpravy obsahujú konzervačné činidlá azid sodný a timerosal. Azid sodný reaguje s olovom a meďou za vzniku výbušných azidov. Azid sodný a timerosal môžu pri priamom kontakte s pokožkou spôsobiť podráždenie. V prípade kontaktu s pokožkou postihnuté miesto vymyte veľkým množstvom vody.
- Kyselina sírová, v koncentrácii 0,5 mol.l⁻¹, môže pri priamom kontakte s očami alebo pokožkou spôsobiť podráždenie. V prípade zasiahnutia očí alebo kože postihnuté miesto vymyte veľkým množstvom vody.
- Azid sodný, timerosal a kyselina sírová v koncentráciách, ktoré sú použité v súprave, sú zdraviu škodlivé. Vzhľadom k nízkemu obsahu škodlivých látok v substanciiach súpravy životné prostredie nie je ohrozené.
- Kontrolné vzorky obsahujú ľudské sérum. Ľudské sérum použité na prípravu týchto substancii vykazovalo negatívnu reakciu na

prítomnosť antigénu HBsAg, HIV 1, HIV 2 a HCV. Žiadna metóda stanovenia však nie je schopná dať stopercentnú istotu, preto so substanciami obsahujúcimi ľudské sérum pracujte ako s infekčným materiálom, pri práci používajte rukavice.

- Výrobca ručí za výsledky dosiahnuté súpravou ELISA-anti-MILK-II-M semikvantitatívna len v prípade dodržiavania návodu a skladovacích podmienok.

LIKVIDÁCIA ODPADU

Nepoužitý zvyšok pacientských vzoriek a substancie obsahujúce ľudské sérum likvidujte ako infekčný materiál, ostatný materiál a nepoužitý zvyšok súpravy obsahujúce nebezpečné chemické látky odporúčame tiež zabezpečiť v súlade s ustanoveniami zákona NR SR č. 223/2001 Z.z. a vyhlášky MŽP SR č. 284/2001 Z.z.

SKLADOVANIE A STABILITA

Súpravu skladujte pri 2 - 8 °C. Doba expirácie súpravy je 9 mesiacov odo dňa výroby, ak sú substancie v pôvodnom stave. Neodporúčame kombinovať substancie viacerých šarží.

| | | | | | |
|--|--|---|--|---|-------------------------------------|
|  EN ISO 9001 v platnom znení | Certifikovaný systém manažérstva kvality |  | Pozorne prečítajte návod na použitie |  | Podniková norma |
|  EN ISO 13485 v platnom znení | Certifikovaný systém manažérstva kvality pre zdravotnícke pomôcky |  | Nepoužívať opakovane |  | Použiť do |
|  | Značka zhody so Smernicou Európskeho parlamentu a Rady 98/79/ES a NV SR č. 569/2001 Z.z. |  | Diagnostický zdravotnícky prostriedok IN VITRO |  | Jednorazový obal po použití vyhodíť |
|  | Obmedzenie teploty |  | Výrobca |  | Neškodí životnému prostrediu |
| | |  | Číslo šarže |  | Recyklovateľný obal |
| | |  | Katalógové číslo | | |



BIOGEMA, výrobné družstvo, Košice

Garbiarska 2, 040 01 Košice, SR
Tel.: +421 55 - 633 6753, 622 5719, 622 8131
e-mail: biogema3@biogema.sk www.biogema.sk



01/2021

BIOGEMA CZ, s.r.o.

Šromova 803/1b, 643 00 Brno
Tel.: +420 545 578 255, mobil +420 603 973 047
e-mail: biogema@biogema.cz www.biogema.cz
Distribúcia v ČR

Odporúčania na spracovanie súprav na ELISA automatoch.

Nastavenie teploty v automatizovanom systéme musí byť zabezpečené tak, aby bolo v súlade s odporúčanou teplotou uvedenou v návodoch pre spracovanie súprav.

Odporúčame zabezpečiť aby substrát v automate nebol vystavený svetlu a aby sa tým eliminovala možnosť jeho znehodnotenia (zmodranie na svetle). Odporúčame mať počas spracovania súpravy zatvorený hlavný kryt automatizovaného systému.

Pre každé spracovanie súpravy použiť a nariediť iba potrebné množstvo čerstvých substancií. Ak už vzniknú prebytky z predchádzajúcich meraní (napr. vymývacieho roztoku, štandardov ...) neodporúčame na ďalšie použitie aj keď boli uskladnené v chlade.

Pred samotným spracovaním v automatizovanom systéme je dôležité dodržať odporúčania ohľadne vytemperovania substancií (vplyv na presnosť merania) a mikrotitračnej platničky (eliminovať možnosť kondenzátu po vybratí z uskladnenia v chlade).

Substancie používať iba v rámci príslušnej šarže a súpravy (nesmú sa miešať substancie medzi rôznymi šaržami)

Odsledovať časový priebeh jednotlivých krokov v rámci spracovania súpravy v automatizovanom systéme či korešponduje s odporúčaným postupom uvedeným v návode (hlavne po fáze premývania by mala byť hneď pridaná príslušná substancia - konjugát, substrát). V prípade nesúladu konzultovať správne programové nastavenia so servisným technikom.

Skontrolovať správny priebeh každého kroku spracovania súpravy v automatizovanom systéme – napr. nevšimnutie si, že sú zlepené prírodné hadičky spôsobí zlé premytie platne.



BIOGEMA, výrobné družstvo, Košice

Garbiarska 2, 040 01 Košice, SR

Tel.: +421 55 - 633 6753, 622 5719, 622 8131

e-mail: biogema3@biogema.sk www.biogema.sk



BIOGEMA CZ, s. r. o.

Sromova 803/1b, 643 00 Brno

Tel.: +420 545 578 255, mobil: +420 603 973 047

e-mail: biogema@biogema.cz www.biogema.cz

Distribúcia v ČR